

B群ビタミン類の分子間相互作用性に関する研究

著者	辻 和之
号	21
発行年	1968
URL	http://hdl.handle.net/10097/15846

氏名(本籍) 辻 和之

学位の種類 薬学博士

学位記番号 薬 第 2 1 号

学位授与年月日 昭和43年12月11日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

学位論文題目 B 群ビタミン類の分子間相互作用性に関する研究

(主 查)

論文審査委員 教授 岡 野 定 輔 教授 内 山 充

教授 小 澤 光

論文内容要旨

本研究は、B群ビタミンのうちで補酵素作用のよく知られているビタミンB₁、B₂およびニコチン酸アミドの分子間相互作用性について検討したものである。電子受容性の知られているビタミンB₂（リボフラビン）については、電子供与性とみられるアスコルビン酸およびスルファニルアミド関連化合物との相互作用を、電子供与性を有するものと考えられるビタミンB₁（チアミン）およびニコチン酸アミドについては、強力な化学発ガン剤で電子受容性が知られている4-Nitroquinoline 1-oxide(4-NQO)との相互作用を、主として電荷移動ないし錯体形成の面から解明を試みた。

1) リボフラビンの電子スペクトル

リボフラビンの分子間相互作用性を検討するに先立つて、イソアロキサチン核の電子的性状を明らかにする目的で、リボフラビンテトラブチレート(RTB)を用いて各種非水溶媒中での吸収およびけい光スペクトルを検討した。

その結果、RTBは四塩化炭素やジエチルエーテルのような無極性溶媒中での吸収スペクトルにおいて、水溶液中の450mμ(α吸収帯)および370mμ(β吸収帯)に相当する450および340mμ付近の吸収帯のほか、α吸収帯の両側470および420mμ付近に新しい肩ないし極大を示すことが観察された。α吸収帯の吸収極大の位置は溶媒の極性によつて影響されないのに対して、β吸収帯は溶媒極性の増大にともなつて長波長側へ移動し、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移に帰属することが明らかにされた。さらに、プロトン供与性溶媒と溶質分子との間の水素結合により、β吸収帯が影響を受けることが観察された。

RTBの無極性溶媒中のけい光スペクトルには500および520mμ付近の2カ所に極大が観察された。この短波長側の極大の位置は吸収スペクトルのβ吸収帯と同様に溶媒の極性の増大にともなつて長波長側へ移動した。両極大のけい光強度はRTBの濃度によつて影響を受け、長波長側のものはRTBの会合によることが示された。これはα吸収帯の両側の新しい肩ないし極大と対応関係があり、会合様式としてはイソアロキサチン核の π 電子分布図から分子の重層(Stacking)による2量体形成の可能性が強いことが推定された。

2) リボフラビンとアスコルビン酸との相互作用

リボフラビンとアスコルビン酸との高濃度混合水溶液の褐変現象として観察された両者間の相互作用を分光光度法および溶解度法により検討した。両者の混合水溶液のリボフラビンを対照とした差スペクトルにみられる新吸収帯は、その吸収極大の位置 ($493\text{ m}\mu$) および分子吸光係数 ϵ の大きさ (2700) からリボフラビンのセミキノンに由来することが示された。この吸収帯について Benesi-Hildebrand 式による解析を行ない、両者間に成分モル比 1:1 の錯体形成が確認された。錯体の生成定数 K の値は温度の上昇とともに減少し、錯体形成が発熱反応であることが指示された。 K 値より結合エネルギー ΔH およびエントロピー変化 ΔS を算定し、この相互作用は電荷移動に近似の弱いものであることが示された。リボフラビン-アスコルビン酸混合系の非水溶液中の差スペクトルには、 $380\text{ m}\mu$ 付近に $\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移に帰属される新吸収帯の出現が観察された。水溶液中で明瞭な $490\text{ m}\mu$ 付近の吸収帯と非水溶液中で明瞭な $380\text{ m}\mu$ 付近の吸収帯との相関性について、短波長側の吸収帯は電荷移動性のものと考えられ、長波長側のものはセミキノン性のものであることから、非水溶液中の電荷移動 ($380\text{ m}\mu$ 付近の吸収帯の出現) が、水溶液中ではセミキノン型 ($490\text{ m}\mu$ 付近の吸収帯) にまで進行するものと推定された。

3) リボフラビンとスルファニルアミド関連化合物との相互作用

リボフラビンとスルファニルアミドの高濃度の混合水溶液は混合後ただちにやや赤味を呈するが、この事実にもとづいてリボフラビンと *p*-アミノ安息香酸を含むスルファニルアミド関連化合物との相互作用を検討した。リボフラビンとスルファニルアミド関連化合物との各種混合系の差スペクトルは 500 および $370\text{ m}\mu$ 付近に新吸収帯の出現が観察された。これらの2個の吸収帯における測定値を Benesi-Hildebrand 式で解析した結果、成分モル比 1:1 の錯体形成が確認された。 K 、 ΔH および ΔS 値ならびに溶媒効果を検討して、スルファニルアミドと *p*-アミノ安息香酸はリボフラビンに対してきわめて類似した相互作用を示すことが明らかにされた。2個の新吸収帯の間には、リボフラビン-アスコルビン酸混合系で観察されたと同様の相関性を認め、溶媒の非水溶液から水溶液への変化は相互作用が電荷移動 ($370\text{ m}\mu$ 付近の吸収帯の出現) からセミキノン型 ($500\text{ m}\mu$ 付近の吸収帯) へ進行するものと推定された。長波長側の吸収極大における吸光度に及ぼす pH の影響を検討して、リボフラビンとスルファニルアミド関連化合物との錯体形成には両者とも非解離型の方が有利であることが判明した。リボフラビン-スルファニルアミドおよびリボフラビン-*p*-アミノ安息香酸両混合系については溶解度法からもその類似性が確認された。

4) チアミンと4-NQOとの相互作用

発ガン性物質4-NQOとチアミンとの相互作用を、チアミンのピリミジン部分およびチアゾリウム部分のモデル化合物としてそれぞれ4-amino-2, 5-dimethylpyrimidineおよび3, 4-dimethyl-5-(2-hydroxyethyl)thiazolium chlorideを併用して検討した。その結果、酸性領域ではチアミンと4-NQOとの間に錯体の形成が生じ、アルカリ性領域ではチアミンのチオール基と4-NQOのニトロ基との間に置換反応が生じることが明らかにされた。

4-NQOを対照としたチアミンと4-NQOとの酸性混合水溶液の差スペクトルは400m μ 付近に吸収極大を示し、この吸収帯は4-NQOとのチアミンのピリミジン部分との間に形成された成分モル比1:1の錯体に起因することが明らかにされた。錯体の ϵ , K および ΔH 値を算定し、錯体形成に及ぼす pH の影響および溶媒効果を検討した。その結果、この相互作用はチアミンが電子供与体、4-NQOが電子受容体となった。 $n-\pi$ 型電荷移動錯体形成によりもつともよく説明できることが示された。

一方、アルカリ性溶液中での4-NQOとチアミンと置換反応は、亜硝酸イオンの離脱とともに混合系の吸収スペクトル上360m μ 付近の新吸収帯の出現で確認された。反応生成体は濾紙クロマトグラフィーにより分離され、吸収スペクトルにもとづいてその化学構造が推定された。

なお、非発ガン性の4-nitropyridine 1-oxide(4-NPO)は、酸性領域ではチアミンとの間に錯体形成が認められたが、アルカリ性領域ではチアミンとの間に化学反応の生起は観察されなかつた。

5) ニコチン酸アミドと4-NQOとの相互作用

ニコチン酸アミドと4-NQOとの相互作用を分光光度法により検討し、つぎの諸結果が得られた。(1) 4-NQOを対照としたニコチン酸アミド-4-NQO混合水溶液の差スペクトルには402m μ 付近に電荷移動錯体に特徴的な新吸収帯の出現が観察された。(2) 新吸収帯のBenesi-Hildebrand式による解析から成分モル比1:1の錯体形成が明らかにされた。(3) この吸収帯の吸光度はニコチン酸アミドの pK_a に対応した pH 以下の酸性領域で減少した。(4) 1-methylnicotinamideと4-NQOとの混合系の差スペクトルで396m μ 付近に現われた新吸収帯の吸光度は pH の変化により影響されなかつた。(5) ニコチン酸アミドと、電子親和性が4-NQOのそれより小さな4-NPOとの混合系の場合は、差吸収帯が340m μ 付近、すなわちニコチン酸アミド-4-NQO混合系のそれよりも短波長領域に出現した。これらの結

果から、ニコチン酸アミドと4-NQOとの間には、ニコチン酸アミドの環窒素のn電子が4-NQOの π 系に移動した電荷移動錯体の形成が推定された。 ϵ 、 λ 、 ΔH および ΔS 値の大きさもこの推定と矛盾しなかつた。なお、溶媒効果の検討から新吸収帯は $n \rightarrow \pi^*$ 遷移に起因するところが明らかにされた。

総 括

本研究において検討したのは、B群ビタミンのうちのごく限られたものについてであるが、分子間相互作用性の一面を明らかにすることができた。

RTBの非水溶液中の電子スペクトルの観察により、イソアロキサチン核とプロトン供与性溶媒との間に水素結合性が、また無極性溶媒中ではイソアロキサチン核の分子会合性が認められた。

リボフラビン電子受容体として、電子供与性のアスコルビン酸およびスルファニルアミド関連化合物と水溶液中で成分モル比1:1の錯体を形成することを、分光法および溶解度法の両法により確認した。リボフラビンと相手の化合物との相互作用は、混合系の差スペクトルにおける2個の新吸収帯の相関性から考えて、非水溶液中での電荷移動が水溶液中ではセミキノン型にまで進行するものと推定された。

中程度の電子供与体としての性質を有するチアミン（酸性領域）およびニコチン酸アミドは、水溶液中電子受容性の4-NQOとの間に電荷移動性と考えられる錯体を形成することが分光法により明らかにされた。なお、チアミンはアルカリ性領域で4-NQOとの間に置換反応を生起することが確認された。

以上、B群ビタミン類の分子間相互作用性について得られた結果は、これらビタミンの生体内における作用を検討するうえでの基礎的情報を提出したものと考える。

審 査 結 果 の 要 旨

生体における各種細胞内物質の作用機構を検討するためには、これら物質の分子間相互作用の研究も重要な研究対象の一つと考えられる。錯体形成を説明する分子間力の一つとしてMullikenにより展開された電荷移動の概念は、基礎化学の分野に止まらず、応用化学としての生化学、薬学の分野にも及び、酵素の作用機序、発ガン機構、医薬の作用機序等に対する説明にも適用され、今後の発展が期待されている。

ビタミンが生理作用を発揮するには、細胞内物質との間に何等かの相互作用が生起していることが考えられ、また化学療法剤、抗生物質によるビタミン欠乏症も生体内におけるビタミンとこれら薬物との間の相互作用もその一原因となり得る可能性がある。このような観点から、ビタミンの分子間相互作用性の検討は極めて重要な問題と考えられる。本研究では、B群ビタミンのうちで補酵素作用のよく知られているビタミンB₁、B₂およびニコチン酸アミドの分子間相互作用性について検討がなされた。電子受容性のビタミンB₂（リボフラビン）については、電子供与性のアスコルビン酸およびスルファニルアミド関連化合物との相互作用を、電子供与性とみられるビタミンB₁（チアミン）およびニコチン酸アミドについては、強力な化学発ガン剤で電子受容性の知られている4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) との相互作用を主として電荷移動ないし錯体形成の面から解明がなされた。相互作用の検討は分光光度法により行なわれたが、適宜溶解度法が併用された。その結果：(1) リボフラビンのイソアロキサチン核とプロトン供与性溶媒との間に水素結合性が、無極性溶媒中ではイソアロキサチン核の分子会合性が認められた。(2) リボフラビンはアスコルビン酸およびスルファニルアミド関連化合物との間に溶媒中錯体の形成が観察され、その錯体は非水溶液中の電荷移動が水溶液中ではセミキノン型にまで進行するものと推定された。(3) チアミンと4-NQOとの間には、酸性領域では $n-\pi$ 型電荷移動によりもつともよく説明される錯体形成が、アルカリ性領域ではチアミンのチオール基と4-NQOのニトロ基との間に置換反応を生起することが明らかにされた。(4) ニコチン酸アミドの環窒素の n 電子が4-NQOの π 系に移動した電荷移動錯体の形成が推定された。本研究から、主要なB群ビタミンの分子間相互作用性の一面を明らかにすることができたが、ここで得られた知見は、スルファニルアミドや4-NQOなどの生体内作用とビタミンとの相互作用を検討する上での基礎的な情報を提供したものと考える。

以上の如く本論文は学位を授与するに値するものと認められる。